

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.016.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 07.10.2015г, № 10

О присуждении Макаревичу Павлу Игоревичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Разработка метода комбинированной генной терапии ишемических заболеваний с использованием плазмидных конструкций с генами VEGF165 и HGF человека» по двум специальностям: 14.01.05 (Кардиология) и 03.01.04 (Биохимия) принята к защите 22.04.2015 г., протокол № 3 диссертационным советом Д 208.016.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава России: 101000, г. Москва, Петроверигский переулок, д. 10, стр. 3); приказ о создании диссертационного совета № 105/нк от 11 апреля 2012г.

Соискатель Макаревич Павел Игоревич, 1985 года рождения, в 2008 году с отличием окончил факультет фундаментальной медицины (ФФМ) ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ имени М.В.Ломоносова) по специальности «лечебное дело», в 2011 году окончил очную аспирантуру по специальности «биохимия» там же. В настоящее время работает врачом-терапевтом лаборатории регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного центра МГУ имени М.В.Ломоносова, а

также по совместительству – в должности старшего научного сотрудника кафедры биохимии и молекулярной медицины ФФМ МГУ имени М.В.Ломоносова.

Диссертация выполнена на кафедре биохимии и молекулярной медицины ФФМ МГУ имени М.В. Ломоносова и в лаборатории ангиогенеза Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» (ФГБУ РКНПК) Минздрава России.

Научный руководитель – доктор медицинских наук, профессор Елена Викторовна Парфёнова, руководитель лаборатории ангиогенеза Института экспериментальной кардиологии ФГБУ РКНПК Минздрава России.

Официальные оппоненты:

Авдонин Павел Владимирович – доктор биологических наук, профессор, руководитель лаборатории физиологии рецепторов и сигнальных систем Федерального государственного учреждения науки «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» Российской академии наук и

Затейщиков Дмитрий Александрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий первичным сосудистым отделением Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница №51 Департамента здравоохранения г. Москвы» – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт кардиологии» (г. Томск) в своем положительном заключении, составленном Тепляковым Александром Трофимовичем – руководителем отделения сердечной недостаточности – указывает, что диссертация Макаревича Павла Игоревича «Разработка метода комбинированной генной терапии ишемических заболеваний с использованием плазмидных конструкций с генами VEGF165 и HGF человека» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена задача создания нового, оригинального и перспективного метода генной терапии, а также изучены мало исследованные молекулярные и клеточные механизмы,

лежащие в основе разработанного подхода, что имеет существенное значение для медицинской науки. По своей актуальности, объему проведенных исследований, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Макаревича Павла Игоревича полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук.

Соискатель имеет 28 опубликованных работ по теме диссертации (из них – 11 статей, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК; 16 – тезисы национальных и зарубежных конгрессов, научно-практических конференций, получен 1 патент на изобретение). В 15 публикациях соискатель является первым автором, в 8 публикациях – вторым; авторский вклад его составляет не менее 75%, а общий объем научных публикаций составляет 104 страницы.

Наиболее значительные работы, опубликованные по теме диссертации:

1. Макаревич П.И., Шевелев А.Я., Рыбалкин И.Н., Каширина Н.М., Липатова Л.Н., Цоколаева З.И., Шевченко Е.К., Белоглазова И.Б., Болдырева М.А., Рубина К.А., Власик Т.Н., Парфёнова Е.В. / Новые плазмидные конструкции, предназначенные для терапевтического ангиогенеза и несущие гены ангиогенных факторов роста – VEGF, HGF и ангиопоэтина-1. // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2010. Т. V. №1. С. 47-52.
2. Makarevich P.I., Tsokolaeva Z.I., Shevelyov A.Ya., Rybalkin I.N., Shevchenko E.K., Beloglazova I.B., Vlasik T.N., Tkachuk V.A., Parfyonova Ye.V. / Combined transfer of human VEGF165 and HGF genes renders potent angiogenic effect in ischemic skeletal muscle. // PLoS One. 2012. Т. 7. №6. С. e38776.
3. Кочегура Т.Н., Макаревич П.И., Овчинников А.Г., Жигунова Л.В., Лахова Е.Л., Масенко В.П., Парфёнова Е.В., Агеев Ф.Т. / Циркулирующие факторы, ассоциированные с метаболическими нарушениями у пациентов с

постинфарктной сердечной недостаточностью. // Сердечная недостаточность. 2013. Т. 14. №4. С. 191-199.

4. Кочегура Т.Н., Макаревич П.И., Овчинников А.Г., Жигунова Л.В., Лахова Е.Л., Шестакова М.В., Агеев Ф.Т., Парфёнова Е.В. / Циркулирующий фактор роста гепатоцитов (HGF) у больных с хронической сердечной недостаточностью, сочетающейся с сахарным диабетом 2 типа и нарушением жирового обмена. // Сахарный диабет. 2013. №2. С. 17-25.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

Осиева Александра Григорьевича – доктора медицинских наук, профессора, заведующего отделом хирургии сердца и сосудов ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского» (г. Москва);

Гуревича Михаила Александровича – доктора медицинских наук, профессора кафедры терапии Факультета усовершенствования врачей ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского» (г. Москва);

Романова Александра Борисовича – доктора медицинских наук, ведущего научного сотрудника Центра интервенционной кардиологии ФГБУ «НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России (г. Новосибирск);

Чернявского Александра Михайловича – доктора медицинских наук, профессора, руководителя Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий ФГБУ «НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России (г. Новосибирск);

Закияна Сурена Минасовича – доктора биологических наук, профессора, заведующего Лабораторией стволовой клетки ФГБУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения РАН (г. Новосибирск).

Отзывы положительные, существенных замечаний не содержат. В них указывается актуальность работы, достоверность полученных результатов, подтвержденная статистическими методами, подчеркивается новизна и научно-практическая значимость, а также сделано заключение о том, что диссертация

соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием достаточного количества публикаций в рецензируемых журналах по тематике представленной диссертации, а также их научными достижениями в области кардиологии и биохимии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

показана связь уровня ключевого ангиогенного фактора роста – эндотелиального сосудистого фактора роста (VEGF165) с концентрацией натриуретических пептидов у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и хронической сердечной недостаточностью (ХСН);

выявлено увеличение концентрации фактора роста гепатоцитов (HGF) у больных с сочетанием ИБС и сахарного диабета 2 типа по сравнению с подгруппой больных ИБС без сахарного диабета 2 типа; также при регрессионном анализе выявлена значимая связь между повышением уровня HGF и ИБС;

впервые в России разработан метод генной терапии ишемических заболеваний на основе комбинированной доставки двух ангиогенных факторов роста – VEGF165 и HGF, вводимых в ткань с помощью оригинального отечественного плазмидного вектора pC4W;

показано преимущество комбинированной доставки VEGF165 и HGF по сравнению с введением одиночных векторов по параметрам ангиогенной эффективности и защиты ткани от повреждения – при введении комбинации двух плазмидных векторов обнаружено увеличение плотности капилляров в тканях экспериментальных животных с ишемией задней конечности или инфарктом миокарда (ИМ);

исследованы клеточные и молекулярные механизмы эффектов VEGF165 и HGF при комбинированном введении – показана роль экспрессии хемокинов эндотелием, определены основные сигнальные посредники и транскрипционные регуляторы, ответственные за реализацию биологической активности комбинации

VEGF165 и HGF; таким образом, в работе показана роль плеотропных эффектов факторов роста как детерминант терапевтической эффективности разрабатываемых препаратов.

Теоретическая значимость диссертационного исследования обоснована тем, что:

показана биомаркерная роль повышения уровня факторов роста в системной циркуляции, связанная с их возможным участием в компенсации системной гипоксии и нарушений тканевого гомеостаза при ИБС и связанной с ней ХСН;

впервые в России использован подход, когда разработка генно-терапевтического препарата выполнялась, начиная с этапа клинико-лабораторного скрининга, в ходе которого установлена физиологическая значимость факторов роста (VEGF165 и HGF) и релевантность их доставки с терапевтической целью;

предложена научная идея о важности исследования клеточных механизмов эффектов комбинированных генно-терапевтических методов, которая может быть в дальнейшем использована при разработке новых лекарственных препаратов этого класса, а также оказать влияние на критерии выбора, используемые при их создании;

автором предложены дальнейшие направления разработки проблемы повышения эффективности генной терапии, затрагивающие роль плеотропизма белков, используемых для стимуляции ангиогенеза и регенерации.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается следующим:

полученные в ходе работы результаты внедрены в научно-практическую деятельность Института экспериментальной кардиологии РКНПК и использованы при выполнении государственных контрактов и международного многоцентрового исследования «SICA-HF»; в результате проведенных разработок группой авторов, включающей П.И. Макаревича, получен патент на изобретение №2522778 «Средство для лечения ишемических поражений тканей и способ его применения»;

создан принципиально новый, более эффективный препарат для генной терапии ишемических заболеваний, который после дополнительных доклинических испытаний может быть рекомендован для испытаний у пациентов с ИБС или периферическим атеросклерозом;

определены экспрессионные и функциональные свойства плазмид с генами VEGF165 и HGF, которые могут применяться для разработки методов генной терапии различных заболеваний;

установлена биомаркерная роль повышения уровня факторов роста – VEGF165 и HGF, что может найти применение в практике при обследовании больных ИБС при наличии коморбидного патологии и/или постинфарктной ХСН.

Оценка достоверности результатов диссертации выявила, что в ходе клинико-лабораторного исследования была сформирована выборка достаточного объема ($n=81$), соответствующая критериям включения и исключения, а также использованы адекватные и современные методы обследования. В экспериментальной части сформированы достаточные по объему группы животных ($n=7-10$), выбраны адекватные сроки проведения опытов (2-3 нед.), а в опытах *in vitro* выполнены необходимые серии экспериментов ($n=3-4$) для получения достоверных результатов.

Статистическую обработку проводили, используя программный пакет Statistica 6.0. Оценку характера распределения значений в группах проводили с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для определения значимости различий между группами использовали t -критерий Стьюдента или U -критерий Манна-Уитни для выборок с Гауссовым или непараметрическим распределением соответственно. Значимыми считали отличия с $p < 0,05$, при необходимости вводили поправку Бонферрони. Для многофакторного анализа использовали метод логистической регрессии с бинарным откликом.

Личный вклад соискателя состоит в выполнении статистического анализа клинико-демографических показателей в группах исследования; постановке иммуноферментного анализа с образцами плазмы и сыворотки больных ИБС и здоровых добровольцев и статистическом анализе результатов; освоении и

активном использовании методов работы с культурами клеток и эксплантами тканей животных, а также биохимических и гистологических методов исследования, использованных при оценке нового комбинированного препарата на базе VEGF165 и HGF; отработке моделей ишемии скелетной мышцы и ИМ с дальнейшим самостоятельным проведением опытов на животных с оценкой скорости подкожного кровотока методом лазерной доплерографии. Соискателем самостоятельно написана рукопись диссертации и автореферат, подготовлены к публикации статьи и тезисы по теме работы.

На заседании 07 октября 2015 года диссертационный совет принял решение присудить Макаревичу П.И. ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 24 человек, из них 20 докторов наук по специальности 14.01.05 (кардиология) и 3 доктора наук по специальности 03.01.04 (биохимия), участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали: за – 24, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета,

доктор медицинских наук, профессор

Сергей Анатольевич Бойцов

Ученый секретарь

диссертационного совета,

кандидат медицинских наук

Наталья Васильевна Киселева

«09» октября 2015 г.